

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО

**Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології**

_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**
(підпис)
« ____ » _____ 2026 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
**Завідувач кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття**

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)
« ____ » _____ 2026р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Вплив складу живильного середовища на вміст фенольних
сполук в рослинах м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) in vitro»**

**Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітньо-професійна програма “Біотехнології та біоінженерія”**

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук, доцент _____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Керівник бакалаврської роботи

Кандидат біологічних наук, доцент, _____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Виконав

_____ **Віталій БЕЗПЕЧНИЙ**
(підпис)

КИЇВ-2026

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
екобіотехнології
та біорізнноманіття

к.б.н., доцент _____ Олена КВАСКО
« ____ » _____ 2026 р.

З А В Д А Н Н Я

на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студенту

Безпечному Віталію Вікторовичу

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи: «Вплив складу живильного середовища на вміст фенольних сполук в рослинах м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) *in vitro*»
затверджена наказом ректора НУБіП України від «30» жовтня 2025 р. № 2596 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру 15 травня 2025 року.

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: пагони *Mentha piperita* L. в культурі *in vitro*, живильне середовище Мурасиге та Скуга (МС) та його модифікації з різним вмістом макро- і мікроелементів, фітогормонів та джерел вуглецю, методики екстракції фенольних сполук з рослинного матеріалу та визначення загального вмісту фенольних сполук (метод Фоліна–Чокальтьо).

Перелік питань, які потрібно розробити:

1. Дослідити вплив складу живильного середовища на ріст і розвиток рослин м'яти перцевої в умовах *in vitro*.
2. Визначити біометричні показники рослин
3. Визначити вміст фенольних сполук спектрофотометричним методом
4. Провести порівняльний аналіз отриманих результатів та встановити оптимальний склад живильного середовища для накопичення фенольних сполук у рослинах *Mentha piperita in vitro*.

Дата видачі завдання 3 листопада 2025 року

Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи

_____ Олена КВАСКО

(підпис)

Завдання прийняв до виконання

_____ Віталій БЕЗПЕЧНИЙ

(підпис)

РЕФЕРАТ

Загальний обсяг роботи 50 сторінок, кількість таблиць - 3, додатків - 1, використаних джерел - 55.

Ключові слова: *MENTHA PIPERITA* L., КУЛЬТУРА *IN VITRO*, ЖИВИЛЬНЕ СЕРЕДОВИЩЕ, МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ, ФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ, ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ, РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЯ РОСЛИН, КУЛЬТИВУВАННЯ РОСЛИН.

Метою даної роботи було дослідити вплив складу живильного середовища на вміст фенольних сполук в рослинах м'яти перцевої (*M. piperita* L.) *in vitro*.

Об'єктом дослідження є процес накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita* L. в умовах культури *in vitro*.

Предметом дослідження є вплив компонентного складу живильного середовища на ріст, розвиток та накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita* L. *in vitro*.

В роботі застосовано такі **методи дослідження** як біотехнологічні, біохімічні, а також статистичні.

Встановлено, що склад живильного середовища суттєво впливає на ріст, морфогенез та накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita in vitro*; найкращі показники росту та пагоноутворення забезпечувало середовище MS з ІОК (0,5 мг/л) і БАП (1,0 мг/л), тоді як найінтенсивніше коренеутворення спостерігалось на середовищі MS з НОК (1,0 мг/л) та кінетином (0,5 мг/л). Показано, що вміст загальних фенольних сполук залежить від концентрації мінеральних солей і сахарози та досягає максимальних значень на модифікованих середовищах B5 зі зниженою концентрацією сахарози й додаванням регуляторів росту. Отримані результати свідчать, що оптимальні умови для інтенсивного росту та

накопичення фенольних сполук відрізняються, а культура *in vitro* є перспективним інструментом для керування ростовими процесами та біосинтезом біологічно активних речовин у *Mentha piperita* L.

Практична значущість роботи полягає у визначенні оптимальних умов культивування *Mentha piperita* L. *in vitro* для підвищення накопичення фенольних сполук із цінними біологічно активними та антиоксидантними властивостями. Отримані результати можуть бути використані в біотехнології рослин, фармацевтичній та харчовій промисловості для одержання рослинної сировини з підвищеним вмістом біологічно активних речовин і розробки ефективних систем синтезу вторинних метаболітів.

ABSTRACT

Total length of the paper: 50 pages; number of tables: 3; number of appendices: 1; number of references: 55.

Keywords: *MENTHA PIPERITA* L., *IN VITRO* CULTURE, NUTRIENT MEDIUM, MICROCLONAL PROPAGATION, PHENOLIC COMPOUNDS, SECONDARY METABOLITES, PLANT GROWTH REGULATORS, PLANT BIOTECHNOLOGY, PLANT CULTIVATION.

The aim of this study was to investigate the effect of the composition of the culture medium on the content of phenolic compounds in peppermint (*M. piperita* L.) plants *in vitro*.

The subject of the study is the process of phenolic compound accumulation in *M. piperita* L. plants under *in vitro* culture conditions.

The subject of the study is the effect of the composition of the culture medium on the growth, development, and accumulation of phenolic compounds in *M. piperita* L. plants *in vitro*.

The study employed biotechnological, biochemical, and statistical methods.

It has been established that the composition of the culture medium significantly affects the growth, morphogenesis, and accumulation of phenolic compounds in *M. piperita* plants *in vitro*; the best growth and shoot formation were observed in MS medium with IBA (0.5 mg/L) and BAP (1.0 mg/L), while the most intense root formation was observed in MS medium with NBA (1.0 mg/L) and kinetin (0.5 mg/L). It was shown that the content of total phenolic compounds depends on the concentration of mineral salts and sucrose and reaches maximum values on modified B5 media with reduced sucrose concentration and the addition of growth regulators. The results obtained indicate that the optimal conditions for intensive growth and accumulation of phenolic compounds differ, and *in vitro* culture is a promising tool for

controlling growth processes and the biosynthesis of biologically active substances in *Mentha piperita* L.

The practical significance of this work lies in determining the optimal conditions for in vitro cultivation of *Mentha piperita* L. to increase the accumulation of phenolic compounds with valuable biologically active and antioxidant properties. The results obtained can be used in plant biotechnology, the pharmaceutical and food industries to obtain plant raw materials with an increased content of biologically active substances and to develop effective systems for the synthesis of secondary metabolites.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	13
1.1. Загальна характеристика виду <i>Mentha piperita</i> L.	13
1.2. Фенольні сполуки рослин: класифікація та біологічна роль	14
1.3. Фенольний профіль <i>Mentha piperita</i> L.	22
1.4. Особливості синтезу вторинних метаболітів у культурі <i>in vitro</i>	24
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	29
2.1. Умови культивування рослин <i>in vitro</i>	29
2.2. Склад та варіанти живильних середовищ	29
2.3. Визначення біометричних показників	31
2.4. Визначення загального вмісту фенольних сполук	31
2.5. Статистична обробка результатів	33
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	34
3.1. Вплив складу живильного середовища на ріст і розвиток рослин <i>Mentha piperita in vitro</i>	34
3.2. Аналіз біометричних показників рослин	36
3.3. Вміст загальних фенольних сполук у рослинах <i>Mentha piperita in vitro</i>	39
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	44

ВСТУП

Рослинна сировина є важливим джерелом біологічно активних сполук, що зумовлює її широке використання у харчовій промисловості, фармацевтиці, медицині та хімічній галузі. Значний інтерес серед лікарських рослин становлять представники роду *Mentha*, які здавна застосовуються у народній та офіційній медицині як джерело природних фітопрепаратів. Особливе місце серед них посідає *Mentha piperita* L. - цінна ефіроолійна та лікарська культура, що характеризується високим вмістом біологічно активних речовин і перспективністю використання у харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості [1].

М'ята перцева є гібридним видом, утвореним у результаті природного схрещування водяної м'яти (*Mentha aquatica* L.) та м'яти колосистої (*Mentha spicata* L.). Рослина широко культивується в країнах Європи, Північної Америки, Азії та Північної Африки завдяки високій господарській цінності та значному попиту на ефірну олію. Крім того, м'ята перцева належить до найбільш популярних рослин, що використовуються для виготовлення трав'яних чаїв та фітопрепаратів.

Зростання інтересу до ефіроолійних рослин пов'язане з пошуком природних антиоксидантів і антимікробних сполук для створення безпечних харчових продуктів, лікарських засобів та косметики. Актуальність таких досліджень зумовлена підвищенням резистентності мікроорганізмів до антибіотиків, а також необхідністю профілактики серцево-судинних та онкологічних захворювань шляхом використання природних біологічно активних речовин [2].

У складі *Mentha piperita* L. виявлено широкий спектр вторинних метаболітів, серед яких особливе значення мають терпеноїди, фенольні кислоти, флавоноїди та їх глікозиди. Саме ці сполуки зумовлюють антиоксидантні, антимікробні, протизапальні, противірусні, антиалергічні

та інші фармакологічні властивості рослини. Ефірна олія м'яти перцевої є однією з найпоширеніших у світі та активно використовується у виробництві жувальної гумки, зубних паст, засобів гігієни ротової порожнини, косметичних і фармацевтичних препаратів.

Характерний аромат і смак рослин роду *Mentha* здавна використовували для маскування неприємного смаку лікарських засобів, що свідчить про багатовікове значення цих рослин у народній та офіційній медицині. Завдяки багатому хімічному складу та широкому спектру біологічної активності *M. piperita* залишається перспективним об'єктом сучасних біотехнологічних, фармакологічних та фітохімічних досліджень [3].

Особливу увагу дослідників привертають фенольні сполуки рослин, які є одними з основних компонентів антиоксидантної системи. До них належать фенольні кислоти, флавоноїди, таніни та інші поліфенольні речовини, що здатні нейтралізувати активні форми кисню та запобігати окиснювальному стресу. Фенольні сполуки характеризуються широким спектром біологічної активності, зокрема антиоксидантною, антимікробною, протизапальною, противірусною та антиканцерогенною дією, що визначає їх важливе значення для фармацевтичної та харчової промисловості. У зв'язку з цим пошук рослинних джерел фенольних сполук та вивчення факторів, які впливають на їх накопичення, є актуальним напрямом сучасних фітохімічних і біотехнологічних досліджень.

Особливу увагу дослідників привертають фенольні сполуки рослин, які є одними з основних компонентів антиоксидантної системи рослинного організму. До них належать фенольні кислоти, флавоноїди, таніни та інші поліфенольні речовини, що здатні нейтралізувати активні форми кисню та запобігати окиснювальному стресу. Фенольні сполуки характеризуються широким спектром біологічної активності, зокрема антиоксидантною, антимікробною, протизапальною, противірусною та антиканцерогенною

дією, що визначає їх важливе значення для фармацевтичної та харчової промисловості. У зв'язку з цим пошук рослинних джерел фенольних сполук та вивчення факторів, які впливають на їх накопичення, є актуальним напрямом сучасних фітохімічних і біотехнологічних досліджень [4].

У складі *Mentha piperita* L. виявлено широкий спектр вторинних метаболітів, серед яких особливе значення мають терпеноїди, фенольні кислоти, флавоноїди та їх глікозиди. Саме ці сполуки зумовлюють антиоксидантні, антимікробні, протизапальні, противірусні, антиалергічні та інші фармакологічні властивості рослини [1, 5]. Ефірна олія м'яти перцевої є однією з найпоширеніших у світі та активно використовується у виробництві жувальної гумки, зубних паст, засобів гігієни ротової порожнини, косметичних і фармацевтичних препаратів [6].

Враховуючи вище зазначене, **метою даної роботи** було дослідити вплив складу живильного середовища на вміст фенольних сполук в рослинах м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) *in vitro*

Згідно поставленої мети було сформульовано наступні **завдання**:

1. Дослідити вплив складу живильного середовища на ріст і розвиток рослин м'яти перцевої в умовах *in vitro*.
2. Визначити біометричні показники рослин.
3. Визначити загальний вміст фенольних сполук спектрофотометричним методом.
4. Провести порівняльний аналіз отриманих результатів та встановити оптимальний склад живильного середовища для накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita in vitro*.

Об'єктом дослідження є процес накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita* L. в умовах культури *in vitro*.

Предметом дослідження є вплив компонентного складу живильного середовища на ріст, розвиток та накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita* L. *in vitro*.

В роботі застосовано такі методи дослідження як біотехнологічні, біохімічні, а також статистичні.

Практична значущість даної роботи полягає у встановленні оптимального складу живильного середовища для культивування рослин *M. piperita* L. *in vitro* з метою підвищення накопичення фенольних сполук, що мають цінні антиоксидантні та біологічно активні властивості. Отримані результати можуть бути використані у біотехнології рослин для цілеспрямованого регулювання синтезу вторинних метаболітів, а також у фармацевтичній та харчовій промисловості як основа для отримання рослинної сировини з підвищеним вмістом біологічно активних речовин. Крім того, дані дослідження можуть слугувати базою для подальших робіт зі створення ефективних біотехнологічних систем одержання фенольних сполук рослинного походження.

Робота виконувалась на кафедрі екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології Національного університету біоресурсів і природокористування України.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика виду *Mentha piperita* L.

Mentha piperita L. є однією з найважливіших ефіроолійних і лікарських рослин родини Lamiaceae, яка широко використовується у фармацевтичній, харчовій та косметичній промисловості. Значний інтерес до цієї культури пов'язаний із високим вмістом біологічно активних речовин та широким спектром фармакологічної активності. За даними сучасних досліджень, м'ята перцева є перспективним джерелом природних антиоксидантів, антимікробних та протизапальних сполук, що можуть застосовуватись у виробництві лікарських засобів, функціональних харчових продуктів і косметичних препаратів.

В промисловості особливо цінується ефірна олія м'яти перцевої. Основними її компонентами є ментол, ментон, ізоментон, ментил ацетат, лімонен, евкаліптол, пулегон та ментофуран. Вміст ментолу може становити 38–70%, що визначає характерний аромат та охолоджувальні властивості рослини. Якість ефірної олії значною мірою залежить від співвідношення ментолу, ментону, пулегону та ментофурану. Високий вміст ментолу та низька концентрація токсичних компонентів - пулегону і ментофурану - вважаються основними показниками високоякісної сировини. Крім ефірної олії, значний інтерес становлять екстракти *M. piperita*, багаті на фенольні сполуки та флавоноїди. У складі рослини ідентифіковано розмаринову кислоту, кавову кислоту, еріоцитрин, лютеолін, гесперидин, кверцетин, апігенін та інші поліфенольні сполуки. Кількісний вміст цих речовин значною мірою залежить від природи екстрагента: метанольні та етанольні екстракти характеризуються вищим вмістом фенольних сполук порівняно з водними екстрактами.

Ефірна олія та екстракти м'яти перцевої мають виражену антиоксидантну активність - здатні нейтралізувати вільні радикали,

пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів та зменшувати прояви оксидативного стресу. Антиоксидантні властивості пов'язані насамперед із високим вмістом фенольних сполук та монотерпенів.

Важливою властивістю екстрактів рослин *M. piperita* є антимікробна активність. Ефірна олія проявляє високу активність щодо грампозитивних бактерій, грибів та деяких вірусів. Антимікробний ефект пов'язані в першу чергу із дією ментолу, ментону та фенольних компонентів, які порушують проникність клітинних мембран мікроорганізмів. Крім того, встановлено протизапальні властивості екстрактів м'яти перцевої, зокрема ефірна олія та екстракти пригнічували синтез прозапальних цитокінів TNF- α та IL-6 *in vitro*, а також зменшували продукцію оксиду азоту; *in vivo* спостерігалось зменшення набряків та прискорення регенерації тканин.

Таким чином, *M. piperita* є перспективним джерелом природних біологічно активних сполук із вираженими антиоксидантними, антимікробними та протизапальними властивостями. Це обумовлює доцільність подальших досліджень рослини, зокрема в галузі біотехнології, створення нових фітопрепаратів та вивчення антимікробної активності екстрактів, отриманих у культурі *in vitro* [7].

1.2. Фенольні сполуки рослин: класифікація та біологічна роль

Фенольні сполуки належать до однієї з найпоширеніших і найбільш різноманітних груп вторинних метаболітів рослин. На сьогодні ідентифіковано понад 8000 їхніх структур, серед яких особливе значення мають флавоноїди, фенольні кислоти та інші поліфенольні компоненти. Значна увага до цих сполук зумовлена їхньою важливою роллю у підтриманні здоров'я людини. Рослинні фенольні метаболіти є об'єктом численних наукових досліджень, що охоплюють виділення сполук із

рослинної сировини, вивчення їхньої хімічної структури та визначення широкого спектра біологічних властивостей.

Із давніх часів рослини використовувалися людиною як джерело лікувальних засобів, що значною мірою пов'язано з наявністю фенольних сполук, які характеризуються вираженими антиоксидантними властивостями. Антиоксидантна активність фенолів реалізується переважно через окисно-відновні механізми, завдяки яким вони можуть виступати як відновники, донори атомів Гідрогену, поглиначі синглетного кисню та хелатуючі агенти для іонів металів. Завдяки цьому фенольні компоненти здатні пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів у тканинах рослинного й тваринного походження. Встановлено, що рослинні фенольні сполуки сприяють не лише збереженню якості харчових продуктів рослинного походження, але й знижують ризик розвитку серцево-судинних захворювань, атеросклерозу, цукрового діабету, онкологічних і нейродегенеративних патологій, а також порушень когнітивних функцій [27, 28, 40].

Основними продуцентами фенольних сполук є вищі рослини, зокрема плодові, овочеві та декоративні культури. За сучасними даними, до цієї групи належить понад 8000 різних молекул і їх похідних. Залежно від особливостей молекулярної будови фенольні сполуки поділяють на мономерні та полімерні форми. До мономерів відносять флавоноїди, прості феноли та стільбени, тоді як полімерні форми представлені танінами, які поділяються на гідролізовані та конденсовані [8].

Фенольні сполуки виконують у рослинному організмі широкий спектр фізіологічних функцій. Вони беруть участь у формуванні забарвлення плодів, квіток та інших органів рослин. Зокрема, антоціани забезпечують червоні, сині та фіолетові відтінки плодів і пелюсток, а флавоноїди впливають на смакові властивості, формуючи терпкість і гіркоту плодів. Фенольні сполуки відіграють важливу роль у захисті

рослин від несприятливих факторів навколишнього середовища, зокрема засолення, екстремальні температури, посуха, токсична дія важких металів, ультрафіолетове випромінювання та дефіцит елементів живлення. Важливе значення вони мають і у формуванні стійкості до біотичних чинників, зокрема до інфекційних агентів, а також у регуляції взаємодії рослин із комахами-запилювачами. Окрім значення для рослинного організму, фенольні сполуки є важливими компонентами харчового раціону людини завдяки своїм вираженим антиоксидантним властивостям [9, 10].

Останнім часом інтерес до дослідження фенольних сполук значно зріс, що пов'язано зі збільшенням попиту на функціональні харчові продукти та необхідністю підвищення якості сільськогосподарської продукції. Сучасні методи метаболоміки, транскриптоміки та генетичної інженерії дозволили встановити механізми регуляції біосинтезу фенольних сполук, зокрема антоціанів і флавоноїдів, а також визначити роль генів і факторів навколишнього середовища у цих процесах. Проте низка аспектів залишається недостатньо вивченою. Зокрема, потребують подальших досліджень питання метаболічного різноманіття фенольних сполук у різних видів рослин, особливо малодосліджених культур і дикорослих видів. Також недостатньо з'ясованими залишаються епігенетичні механізми регуляції синтезу фенольних сполук у системі взаємодії «генотип - умови середовища».

До простих фенольних сполук належать речовини, що містять одну або декілька фенольних гідроксильних груп та мають відносно просту хімічну будову. Їх поділяють на гідроксикоричні та гідроксибензойні кислоти. До гідроксикоричних кислот відносять кавову, кумарову, ферулову, хлорогенову та інші кислоти, тоді як гідроксибензойні кислоти представлені протокатеховою, галовою, ваніліною та п-гідроксибензойною кислотами. Прості фенольні сполуки є одними з

найбільш поширених та біологічно активних алелопатичних речовин у рослинному мікроекологічному середовищі [11, 13].

Фенольні сполуки беруть участь у регуляції багатьох фізіологічних процесів рослинного організму, зокрема проростання насіння, росту, цвітіння, досягання плодів і старіння. Встановлено, що фенольні кислоти та катехіни у насінні *Vitis riparia*, саліцилова кислота в *Arabidopsis thaliana* [14], а також галокатехіни у горосі [15] залучені до регуляції проростання насіння. Фенольні сполуки можуть впливати на транспорт ауксину від верхівки пагона до основи рослини, змінюючи його розподіл у тканинах. Це, у свою чергу, позначається на рості та розвитку органів рослини, зокрема на подовженні коренів, формуванні бічних коренів та напрямку росту пагонів [16].

Крім того, фенольні сполуки можуть впливати на синтез фітогормонів шляхом регуляції активності відповідних ферментів або через модифікацію сигнальних шляхів. Зокрема, лігнін бере участь у регуляції кута нахилу прапорцевого листка рису [15]. Встановлено, що високі концентрації танінів здатні пригнічувати ріст проростків гороху та огірка, індукований гібереловою кислотою, водночас посилюючи ефект індолілоцтової кислоти [18].

Фенольні сполуки є важливими структурними компонентами клітинної стінки рослин. У результаті полімеризації вони утворюють лігнін, який забезпечує механічну міцність тканин і бере участь у розвитку генеративних органів [19]. Багато фенольних сполук є попередниками рослинних пігментів, зокрема антоціанів і флавоноїдів, які забезпечують різноманітне забарвлення квіток, сприяючи привабленню запилювачів, а також можуть впливати на розвиток і дозрівання квіткових органів [20]. Окрім цього, фенольні сполуки здатні регулювати експресію генів фотоперіодичного шляху, впливаючи на реакцію рослин на тривалість світлового дня та час настання цвітіння [21].

Важливу роль фенольні сполуки відіграють у процесах досягання та старіння плодів. Зокрема, хлорогенова кислота, яка є одним з основних поліфенолів м'якоті яблука, здатна знижувати активність ліпоксигенази, β -галактозидази, NADP-малатдегідрогенази та UDP-глюкозопірофосфорилази, а також зменшувати інтенсивність дихання й синтез етилену, що сприяє уповільненню досягання та старіння плодів. Подібні закономірності встановлено також для суниці [22], винограду [23] і томатів [24].

У процесі дозрівання плодів концентрація більшості мономерних фенольних сполук, зокрема халконів, катехінів, епікатехінів, хлорогенової та ферулової кислот, рутину й проантоціанідинів, поступово знижується [25]. Водночас вміст антоціанів зазвичай залишається відносно стабільним. Антоціани характеризуються вираженими антиоксидантними властивостями та здатністю сповільнювати процеси старіння [26].

Якість і врожайність багатьох сільськогосподарських культур значною мірою обмежуються впливом несприятливих чинників навколишнього середовища, серед яких водний дефіцит, засолення ґрунтів, екстремальні температури, нестача мінерального живлення, токсичність важких металів, ультрафіолетове випромінювання, а також ураження бактеріями, грибами та комахами-шкідниками. У відповідь на дію стресових факторів рослини формують адаптивні механізми, одним із яких є накопичення фенольних сполук у клітинах [29].

Фенольні сполуки відіграють важливу роль у формуванні стійкості рослин до абіотичних стресів. Зокрема, клітинні стінки, насичені фенольними компонентами, виконують бар'єрну функцію, обмежуючи втрату води клітинами та підвищуючи ефективність її використання. Це сприяє підвищенню посухостійкості рослин і покращує їх здатність до відновлення після дії водного дефіциту [30].

Одним із найбільш небезпечних абіотичних чинників в умовах глобальних кліматичних змін є температурний стрес. Встановлено, що

обробка рослин розмариновою кислотою активує експресію генів родини *HsfA2* у томатів, які беруть участь у синтезі білків теплового шоку (HSPs), що забезпечують захист клітин від негативного впливу високих температур [31]. Також показано, що фенольні сполуки здатні підвищувати стійкість рослин до низькотемпературного стресу у томатів, яблуні, винограду та персика. При цьому холодострес може взаємодіяти із сигналами саліцилової кислоти, модулюючи імунні реакції рослин [32].

Фенольні сполуки також беруть участь у регуляції мінерального живлення рослин. Зокрема, попередня обробка рослин дофаміном у концентрації 100 мкМ сприяє поглинанню азоту, фосфору, калію, кальцію, магнію, заліза, марганцю, міді, цинку та бору, а також впливає на їх розподіл у тканинах рослини. У *Moringa oleifera* флавоноїди позитивно впливають на накопичення таких елементів, як кальцій, магній, марганець і залізо [33, 34].

Фенольні сполуки мають важливе значення і в реакціях рослин на біотичний стрес. Вони беруть участь у захисних реакціях проти патогенних мікроорганізмів та регулюють взаємодію між рослинами і мікробіотою ризосфери. Кореневі виділення, що містять фенольні сполуки, здатні одночасно пригнічувати розвиток патогенних мікроорганізмів та підтримувати формування корисних симбіотичних мікробних угруповань. Антимікробна дія фенольних сполук пов'язана з їх здатністю порушувати цілісність клітинних мембран мікроорганізмів та пригнічувати метаболічні процеси. Крім того, фенольні сполуки сприяють зміцненню клітинної стінки рослин у місці проникнення патогенів, а активні форми кисню беруть участь у процесах перехресного зшивання компонентів клітинної стінки та передачі захисних сигналів.

Деякі прості та складні фенольні сполуки, зокрема каджанін, медикарпін, гліцеолін, ротенон, куместрол, фазеолін та різні флавоноїди, функціонують як фітоалексини, фітоантиципіни та нематоцидні речовини.

Встановлено, що поліфенольний екстракт насіння льону проявляє антибактеріальну активність щодо *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* та *Pseudomonas fluorescens*. Механізм його дії пов'язаний із пошкодженням клітинних мембран і стінок мікроорганізмів [35].

Мікроорганізми ризосфери, у свою чергу, здатні впливати на якісний і кількісний склад фенольних сполук, змінюючи характер корневих виділень та процеси мікробного катаболізму, що визначає особливості взаємодії рослин і мікроорганізмів. Фенольні сполуки, особливо флавоноїди, які виділяються коренями бобових рослин, виконують функцію хемоатрактантів для бульбочкових бактерій [36].

Фенольні сполуки також виконують сигнальні функції, активуючи експресію генів захисту, реакції оксидативного стресу та гормональні сигнальні шляхи рослин. Особливе значення у формуванні реакцій рослин на патогени мають сигнальні системи саліцилової та жасмонової кислот. Встановлено, що ендогенна сигнальна система саліцилової кислоти у *Arabidopsis thaliana* може пригнічувати реакції, індуковані жасмоновою кислотою або коронатином. Крім того, саліцилова кислота через редокс-модифікації та регуляцію синтезу глутатіону пригнічує сигнальний каскад жасмонової кислоти. Тривале пошкодження рослин американським білим метеликом супроводжується підвищенням вмісту жасмонової кислоти та флавоноїдів, що свідчить про їх участь у захисних реакціях рослин [37].

Склад і розподіл фенольних сполук у рослинах значною мірою визначаються генетичними особливостями виду та сорту, хоча на їх накопичення також впливають стадія розвитку рослин, сезонні умови та фізико-хімічні властивості ґрунту. Найбільша кількість фенольних сполук накопичується у листках, пелюстках, плодах, насінні та інших органах рослин. Водночас їхній вміст і якісний склад суттєво відрізняються як між видами, так і між окремими тканинами рослин [38].

У межах одного виду також спостерігаються значні відмінності у складі та концентрації фенольних сполук між сортами. Наприклад, у винограду антоціани дельфінідинового ряду є домінуючими у шкірці багатьох сортів. У сортів *Vitis vinifera* другою за поширенням групою є метильовані похідні ціанідину, тоді як у американсько-європейських гібридів переважають метильовані похідні дельфінідину. Подібні відмінності виявлені і серед сортів хризантем, у яких основними антоціанами є ціанідин-3-глюкозид та ціанідин-3-(3"-малоніл)-глюкозид.

Важливе значення має також тканинна специфічність накопичення фенольних сполук. У більшості плодів їх концентрація у шкірці значно перевищує вміст у м'якоті, причому в процесі досягання загальний вміст фенольних компонентів поступово знижується. Для *Filipendula ulmaria* встановлено, що листки та квітки характеризуються високим вмістом флавоноїдів, плоди - гідроксикоричних кислот, корені - катехинів і проантоціанідинів, а у плодах також накопичуються значні кількості танінів.

Окрім генетичних особливостей, накопичення фенольних сполук значною мірою залежить від умов навколишнього середовища. Більшість досліджень свідчить про те, що екологічні фактори та агротехнічні умови мають більший вплив на концентрацію фенольних сполук, ніж на їхній якісний склад.

Накопичення фенольних сполук відбувається внаслідок активації фенілпропаноїдного шляху, оскільки гени, що кодують ключові ферменти цього метаболічного шляху, чутливі до дії абіотичних стресів. Так, за умов посухи у томатів спостерігається підвищене накопичення кемпферолу та кверцетину. Під впливом сольового стресу також спостерігається активне накопичення фенольних сполук. Наприклад, надекспресія гена *NtERF4a* у тютюну стимулює накопичення хлорогенової кислоти та флавоноїдів, підвищуючи солестійкість рослин. Крім того, обробка синаповою,

кавовою, феруловою та п-кумаровою кислотами значно покращує стійкість китайської капусти до засолення.

Температура суттєво впливає на накопичення фенольних сполук, а реакція рослин на температурний стрес формується в процесі еволюційної адаптації. Так, у деяких видів за низьких температур відбувається посилене накопичення фенольних сполук для підвищення морозостійкості, тоді як в інших видів можуть спостерігатися протилежні зміни. Високі температури стимулюють накопичення конденсованих танінів у *Achillea millefolium* та підвищують загальний вміст фенольних сполук у цвітній капусті і середземноморських ароматичних рослинах, проте у томатів тепличного вирощування високі температури можуть знижувати загальний вміст фенольних сполук.

Низькі температури, навпаки, здебільшого стимулюють синтез антоціанів у капусти, винограду, яблуні, томатів, маніоку та цитрусових. Особливо інтенсивне накопичення антоціанів спостерігається за значних добових коливань температури, як це встановлено для диких форм яблуні. Водночас тривалий вплив низьких температур може пригнічувати ріст і досягання плодів. Наприклад, у суниці низькі температури затримують накопичення антоціанів та процес досягання плодів [8].

1.3. Фенольний профіль *Mentha piperita* L.

Фенольні сполуки є одними з основних біологічно активних компонентів рослин роду *Mentha*. Представники роду *Mentha* характеризуються високим вмістом фенольних кислот і флавоноїдів, які визначають їхню антиоксидантну, антимікробну та протизапальну активність. Основними фенольними компонентами м'яти є розмаринова, хлорогенова та кавава кислоти, а серед флавоноїдів найчастіше виявляють лютеолін, апігенін, еріоцитрин, рутин і кверцетин.

Біологічні та фармакологічні властивості видів роду *Mentha* значною мірою пов'язані з наявністю летких монотерпенів, зокрема р-ментану, карвону та їхніх похідних. Саме кисневмісні монотерпеноїди формують характерний аромат і смак різних видів м'яти. Водночас у народній медицині настої м'яти традиційно використовувалися для лікування розладів шлунково-кишкового тракту, мігрені та захворювань верхніх дихальних шляхів. Крім того, екстракти різних видів *Mentha* входять до складу численних жовчогінних, седативних, снодійних, послаблювальних і гастроентерологічних препаратів [40].

Основними компонентами водних настоїв та спиртових екстрактів м'яти є полярні нелеткі фенілпропаноїди, серед яких переважають фенольні кислоти - розмаринова та хлорогенова, а також флавоноїди апігенін і лютеолін. Особливу увагу дослідників привертає розмаринова кислота як одна з домінуючих фенольних сполук у рослинах родини *Lamiaceae*.

Незважаючи на значну кількість наукових праць, присвячених морфології, хімічному складу та біологічній активності представників роду *Mentha*, ці рослини й надалі залишаються об'єктом активних досліджень. Особливий інтерес викликають питання фенольного складу та впливу екологічних факторів на накопичення біологічно активних речовин. Встановлено, що умови вирощування суттєво впливають не лише на склад ефірної олії, а й на вміст фенілпропаноїдів у рослинній сировині. Зокрема, тривалий теплий фотоперіод сприяє інтенсивнішому синтезу та накопиченню фенольних сполук і монотерпенів. Важливе значення має також фаза розвитку рослин під час збирання сировини, оскільки у фазі цвітіння концентрація ментолу та його похідних зазвичай є вищою порівняно зі стадією бутонізації.

Сучасні методи хроматографічного аналізу, зокрема газова та рідинна хроматографія у поєднанні з мас-спектрометрією, дають можливість

швидко та точно визначати склад складних рослинних матриць. Завдяки цьому стало можливим детальне дослідження фенольного профілю різних видів роду *Mentha*, а також оцінка їхньої антиоксидантної та інших видів біологічної активності.

Домінуючою фенольною сполукою у більшості досліджених видів *Mentha* є розмаринова кислота. Крім неї, у зразках були виявлені хлорогенова, кавова, ферулова та р-кумарова кислоти, а також флавоноїди лютеолін, апігенін, рутин, кверцетин, кемпферол і гесперидин. Вміст фенольних кислот між окремими видами м'яли відрізняється незначно, тоді як концентрація флавоноїдів характеризувалася суттєвою варіабельністю. Найвищий загальний вміст фенольних сполук був характерний для *Mentha suaveolens*, а найнижчий - для *Mentha cervina*. Водночас високий рівень антиоксидантної активності продемонстрував гібрид *Mentha* × *villosa*. Для *Mentha piperita* встановлено виражену здатність до інгібування тирозинази, що свідчить про перспективність використання екстрактів цього виду у фармацевтичній та косметичній промисловості.

Накопичення фенольних сполук у рослинах роду *Mentha* значною мірою залежить від екологічних умов, тривалості фотоперіоду та стадії розвитку рослин. Встановлено, що теплі умови та довгий світловий день сприяють посиленню синтезу фенольних метаболітів і монотерпенових сполук. Крім того, важливим є хімічний аналіз фенольного профілю для диференціації видів *Mentha*, систематика яких ускладнюється частими процесами поліплоїдії та міжвидової гібридизації [41].

1.4. Особливості синтезу вторинних метаболітів у культурі *in vitro*

Людство використовує лікарські рослини вже протягом тисячоліть, і фітотерапія залишається широко поширеною у всьому світі, особливо в країнах, що розвиваються. Важливим етапом у розвитку фармакогнозії

стало виділення морфіну з опійного маку (*Papaver somniferum*) Ф. Сертюрнером близько 200 років тому, що започаткувало еру раціонального пошуку лікарських засобів. Згодом були виділені й інші біологічно активні сполуки рослинного походження, зокрема кокаїн та дигітоксин, що дало змогу значно точніше використовувати рослинні препарати порівняно з необробленими екстрактами [42].

Сьогодні процес виділення та вивчення біологічно активних речовин із лікарських рослин продовжується. Його метою є як безпосереднє використання вторинних метаболітів як лікарських засобів, так і їх застосування як структурних моделей для синтезу нових фармацевтичних препаратів. Відомо, що близько 15 000 видів вищих рослин, тобто приблизно 5% від загальної кількості, мають підтверджене лікарське використання. Це, а також потенціал ще не досліджених видів, створює значні можливості для відкриття нових біологічно активних природних сполук. Деякі вторинні метаболіти рослин, що широко застосовуються в сучасній медицині. У зв'язку зі зростанням темпів зникнення видів рослин та необхідністю збереження біорізноманіття, питання забезпечення сировиною для отримання рослинних сполук набуває особливої актуальності [43].

Важливою проблемою є також те, що через складність хімічної структури більшості вторинних метаболітів їх синтетичне отримання часто є економічно недоцільним. Крім того, вміст біологічно активних сполук у рослинах зазвичай є низьким і суттєво варіює залежно від виду, умов росту та екологічних факторів [42]. У зв'язку з цим виникає потреба у пошуку альтернативних джерел отримання природних сполук, серед яких особливе місце займають методи культури рослинних тканин *in vitro*. Застосування біотехнологічних підходів культури клітин і тканин рослин відкриває широкі можливості для сталого та контрольованого отримання вторинних метаболітів [44].

Методики ініціації культур клітин, тканин та органів рослин *in vitro* на сьогодні є добре розробленими і стандартизованими. Основні етапи цього процесу включають використання різних типів експлантів, які можуть бути отримані як із частин дорослої рослини, так і з насіння, попередньо пророщеного в асептичних умовах. Обов'язковою передумовою введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro* є його поверхнева стерилізація, спрямована на усунення мікроорганізмів, що супроводжують рослинний матеріал.

Після стерилізації експланти переносять на напівтверде живильне середовище, яке містить необхідні макро- і мікроелементи, а також, що є ключовим, регулятори росту рослин. Культивування здійснюють у контрольованих умовах освітлення, температури та вологості. Залежно від типу вихідного матеріалу та складу живильного середовища можуть формуватися різні типи культур: клітинні (суспензії клітин, протопласти або гаметофітні клітини), тканинні (калусні культури або диференційовані тканини) та органні культури (пагони, корені, зиготичні ембріони).

Одним із ключових етапів є індукція калусоутворення, тобто формування недиференційованої маси клітин. При перенесенні калусу в рідке живильне середовище він може дисоціювати на дрібні агрегати та поодинокі клітини, що дозволяє отримати суспензійні культури клітин. Оскільки калус є гетерогенним за біохімічними характеристиками, для отримання стабільних суспензій зазвичай використовують невеликі, однорідні фрагменти, що забезпечує формування клітинних ліній із високою швидкістю росту.

Суспензійні культури клітин розглядаються як перспективна біотехнологічна система для синтезу цінних вторинних метаболітів рослинного походження. Протягом останніх десятиліть такі культури були отримані для багатьох лікарських рослин. Іншим напрямом є культивування меристем або пазушних бруньок, які розвиваються у пагоноутворювальні

культури на відповідному живильному середовищі. Регулярне мікророзмноження таких пагонів шляхом їх поділу дозволяє досягати високих коефіцієнтів розмноження, що широко використовується у комерційному мікроклональному розмноженні, особливо декоративних рослин [44].

У контексті синтезу вторинних метаболітів найбільша увага приділяється саме суспензійним культурам клітин, оскільки вони характеризуються відносно швидким ростом і можуть бути легко масштабовані до біореакторних систем. Однак слід враховувати, що у вищих рослин синтез деяких біоактивних сполук є тканинно- або органоспецифічним і може відбуватися лише за наявності певних клітинних типів або на певних стадіях розвитку.

Таким чином, накопичення вторинних метаболітів залежить не лише від умов культивування, але й від експресії генів біосинтетичних шляхів та регуляторних механізмів. У зв'язку з цим дослідження також спрямовані на використання органних культур (пагонів, коренів, ембріонів) для отримання цільових сполук. Водночас їх широке промислове застосування поки що обмежене через високу вартість культивування та необхідність спеціалізованих біореакторних систем.

Флавоноїди є однією з найчисельніших груп природних сполук, що присутні у всіх вищих рослинах. Ці фенольні метаболіти характеризуються широким спектром біологічної активності та мають важливе значення як у харчуванні, так і у фармацевтичній промисловості. Окрім флавоноїдів, рослини синтезують також фенольні кислоти, які проявляють антиоксидантні, протизапальні та противірусні властивості [45].

У сучасних дослідженнях значна увага приділяється утворенню флавоноїдів і фенольних кислот у культурах рослинних тканин *in vitro*, зокрема впливу умов культивування. Так, Haida та співавт. (2019) досліджували вплив розміру інокулюму, ступеня агрегації клітин та рН живильного середовища на вміст загальних флавоноїдів у суспензійній

культури *Ficus deltoidea* [46]. Liu та співавт. (2018) показали, що еліситація суспензійних культур *Gardenia jasminoides* саліциловою кислотою та метилжасмонатом значно підвищує їх накопичення [47]. У суспензійних культурах *Ocimum basilicum* встановлено, що застосування різних еліситорів (AgNO_3 , CdCl_2 , дріжджовий екстракт) стимулює синтез як флавоноїдів, так і фенольних кислот [48]. У суспензійних культурах *Salvia leriifolia* також було зафіксовано накопичення розмаринової кислоти на рівні 6,41 мг/г сухої маси [49]. Цікавим є приклад *Trifolium pratense*, у якого *in vitro* рослини демонстрували вищий вміст ізофлавонів (23,55 мг/г сухої маси), ніж дикорослі зразки (14,52–16,51 мг/г). Однак подібні висновки слід трактувати обережно через обмежену кількість контрольних зразків та значну варіабельність вмісту вторинних метаболітів у природних популяціях. Для виду *Oplopanax elatus* встановлено, що адвентивні кореневі культури після еліситації метилжасмонатом здатні накопичувати до 53,87 мг/г сухої маси флавоноїдів [50], що свідчить про високий біотехнологічний потенціал цієї системи. Аналогічні тенденції спостерігаються і для фенольних кислот, зокрема розмаринової кислоти. Дослідження її біосинтезу в культурах *in vitro* розпочалися ще у 1970-х роках, а вже у 1980-х були отримані високопродуктивні системи з виходом до 5,5 г/л. Подальші роботи з *Salvia officinalis* продемонстрували продуктивність до 6,4 г/л. Однак, незважаючи на високі лабораторні показники, такі системи не набули широкого комерційного застосування через економічні та технологічні обмеження [51].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Умови культивування рослин м'яти перцевої *in vitro*

Культивування рослин м'яти перцевої здійснювали в асептичних умовах із використанням методів мікроклонального розмноження. Як вихідний матеріал використовували вегетативні експланти (сегменти пагонів із вузлами), які перед введенням у культуру піддавали поверхневій стерилізації. Стерилізацію проводили поетапно: обробка 70% етанолом протягом 30–60 с, після чого експланти витримували у розчині 25%-го гіпохлориту натрію протягом 10-15 хв із подальшим триразовим промиванням стерильною дистильованою водою.

Отримані стерильні експланти переносили на агаризоване живильне середовище відповідного складу (розділ 2.3.). Культивування проводили у кліматично контрольованих умовах. Температуру підтримували на рівні 24 ± 2 °C, що є оптимальним для росту більшості культур *in vitro*. Освітлення забезпечували за допомогою люмінесцентних ламп із інтенсивністю світла 2000–3000 Люкс. Фотоперіод становив 16 год світла та 8 год темряви.

Тривалість одного пасажу (субкультивування) становила 3–4 тижні, після чого рослини переносили на свіже живильне середовище відповідного складу для подальшого росту та розвитку. Зазначені умови забезпечували стабільний ріст культури та дозволяли оцінити вплив складу живильного середовища на морфогенез і синтез фенольних сполук рослин *Mentha piperita* L. *in vitro*.

2.2. Склад та варіанти живильних середовищ

Для культивування рослин *M. piperita in vitro* використовували базові живильні середовища Мурасіге і Скуга (МС) [52] та Гамборга (В5) [53], які

є загальноприйнятими у біотехнології рослин. Середовища готували відповідно до стандартних протоколів із додаванням необхідних компонентів та подальшою стерилізацією автоклавуванням протягом 20 хв.

До складу живильних середовищ входили макро- та мікроелементи, необхідні для забезпечення росту і розвитку рослин, а також вітаміни та інші органічні сполуки. Як джерело карбону використовували сахарозу у концентрації 20–30 г/л. Для регуляції морфогенезу до середовища додавали фітогормони: ауксини (індоліл-3-оцтову кислоту (ІОК) або нафтилоцтову кислоту (НОК)) та цитокініни (6-бензиламінопурин (БАП), кінетин) у різних концентраціях і співвідношеннях (таблиця 2.2.1.).

Таблиця 2.2.1.

Склад живильних середовищ для культивування *M. piperita in vitro*.

Варіант	Базове середовище	Концентрація мінеральних солей	Сахароза, г/л	Ауксини	Цитокініни
1	МС	100%	30	-	-
2	В5	100%	30	-	-
3	МС	100%	30	ІОК 0,5 мг/л	БАП 1,0 мг/л
4	МС	50%	30	ІОК 0,5 мг/л	БАП 1,0 мг/л
5	МС	100%	20	ІОК 0,5 мг/л	БАП 1,0 мг/л
6	В5	100%	30	ІОК 0,5 мг/л	БАП 1,0 мг/л
7	В5	100%	20	ІОК 0,5 мг/л	БАП 1,0 мг/л
8	МС	100%	30	НОК 1,0 мг/л	Кінетин 0,5 мг/л
9	В5	50%	20	НОК 1,0 мг/л	Кінетин 0,5 мг/л

З метою вивчення впливу складу живильного середовища на ріст рослин і накопичення фенольних сполук було сформовано кілька варіантів досліду, які відрізнялися за типом базового середовища (МС, В5); концентрацією мінеральних солей; вмістом регуляторів росту; концентрацією сахарози.

Дослідження проводили за варіантною схемою із використанням не менше трьох біологічних повторностей для кожного варіанту. У кожній повторності використовували однакову кількість експлантів, що забезпечувало репрезентативність результатів. Такий підхід дозволив провести порівняльний аналіз впливу різних компонентів живильного середовища на морфогенез і синтез фенольних сполук у рослин *M. piperita in vitro*.

2.3. Визначення біометричних показників

Оцінку росту та розвитку рослин проводили шляхом візуального спостереження та визначення біометричних показників. Візуальна оцінка здійснювалася за такими морфологічними показниками: 1) висота пагонів – вимірювали від основи стебла до верхівки найвищого пагона; 2) кількість пагонів – підраховували всі пагони, що сформувалися на рослині; 3) кількість листків – фіксували число листків на кожному пагоні; 4) довжина коренів – визначали у випадку витягнення рослини з ґрунту або середовища культури, від основи стебла до кінчика кореня. Обліки проводилися кожні 7 днів протягом 30 діб.

Отримані дані обробляли статистично: обчислювали середні значення показників для кожної дослідної групи; визначали середнє квадратичне відхилення (похибку), що дозволяло оцінити варіабельність даних і надійність експериментальних результатів.

2.4. Визначення загального вмісту фенольних сполук

Для визначення загального вмісту фенольних сполук використовували спектрофотометричний метод із реактивом Фоліна–Чокальтьо [54], який широко застосовується для кількісного аналізу поліфенольних речовин у рослинному матеріалі.

Підготовка рослинного матеріалу. Рослинний матеріал м'яти перцевої, отриманий у культурі *in vitro*, відбирали після завершення відповідного пасажу культивування. Надземну частину рослин відокремлювали та висушували до повітряно-сухого стану при температурі 40–45 °C до сталої маси. Після висушування зразки подрібнювали до однорідного порошкоподібного стану за допомогою лабораторного гомогенізатора.

Отримання екстрактів. Для екстракції фенольних сполук використовували 70% етанол як екстрагент. Наважку сухого рослинного матеріалу масою 0,1 г переносили у пробірки та додавали 10 мл екстрагента у співвідношенні 1:100 (маса : об'єм). Екстракцію проводили на водяній бані при температурі 40 °C протягом 30 хвилин із періодичним перемішуванням. Після завершення екстракції отримані розчини охолоджували та центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хвилин. Надосадову рідину використовували для подальшого аналізу.

Визначення загального вмісту фенольних сполук методом Фоліна–Чокальтьо. Метод ґрунтується на реакції фенольних сполук із реактивом Фоліна–Чокальтьо в лужному середовищі з утворенням синього комплексу, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації фенольних речовин у зразку.

Для проведення аналізу до 0,5 мл рослинного екстракту додавали 2,5 мл попередньо розведеного реактиву Фоліна–Чокальтьо (1:10) та витримували протягом 5 хвилин. Після цього в суміш додавали 2 мл 7,5% розчину карбонату натрію. Реакційну суміш інкубували у темряві при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Оптичну густину отриманих розчинів вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 765 нм відносно контрольного зразка.

Побудова калібрувальної кривої. Для кількісного визначення фенольних сполук будували калібрувальну криву з використанням

стандартних розчинів галової кислоти у відомих концентраціях. На основі отриманих значень оптичної густини визначали рівняння калібрувальної залежності, за яким розраховували вміст фенольних сполук у дослідних зразках.

Обробка та обрахування результатів. Загальний вміст фенольних сполук виражали у міліграмах еквівалента галової кислоти на 1 г сухої маси рослинного матеріалу (мг ЕГК/г сухої маси). Усі визначення проводили у трикратній повторності, а результати обробляли статистично та подавали у вигляді середнього значення $\pm$ стандартна похибка.

2.5. Статистична обробка результатів

Усі експериментальні дослідження проводили у трикратній біологічній повторності. Для кожного варіанта живильного середовища аналізували 10 рослинних зразків, що забезпечувало достовірність та репрезентативність отриманих результатів. Біометричні показники та вміст фенольних сполук визначали окремо для кожної повторності з подальшим узагальненням даних.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням методів варіаційної статистики. Для кожного дослідного показника обчислювали середнє арифметичне значення (M) та стандартну похибку середнього ($\pm m$). Розрахунки проводили за стандартними формулами математичної статистики. Обробку експериментальних даних проводили з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel. Отримані результати подавали у вигляді таблиць і графіків із зазначенням середніх значень та їх стандартних похибок.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Вплив складу живильного середовища на ріст і розвиток рослин *Mentha piperita in vitro*

Проведені дослідження було спрямовано на вивчення впливу різних варіантів живильних середовищ на ріст і розвиток рослин *M. piperita* в умовах *in vitro*. Аналіз морфогенетичних процесів показав, що склад живильного середовища суттєво впливав на інтенсивність росту пагонів, формування листків, розвиток кореневої системи та загальний фізіологічний стан рослин.

На контрольному середовищі МС без додавання регуляторів росту (варіант 1) спостерігався помірний ріст експлантів, формування поодиноких пагонів та добре розвиненої кореневої системи. Рослини характеризувалися нормальною морфологією, інтенсивним зеленим забарвленням листків і відсутністю ознак некрозу чи хлорозу. На середовищі В5 без фітогормонів (варіант 2) ріст рослин був менш інтенсивним, що проявлялося у зменшенні висоти пагонів та кількості листків. Ймовірно, це пов'язано з відмінностями у мінеральному складі середовища В5 порівняно з МС, яке традиційно вважається більш придатним для культивування більшості видів рослин *in vitro*.

Додавання до середовища МС 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК) та 1,0 мг/л 6-бензиламінопурина (БАП) (варіант 3) стимулювало активне пагоноутворення та збільшення кількості листків. Рослини формували компактні кустики з добре розвиненою надземною частиною, однак розвиток кореневої системи був дещо пригніченим, що є типовим при підвищеному вмісті цитокінінів у середовищі.

У варіанті зі зниженою концентрацією мінеральних солей (50% МС) за наявності ІОК та БАП (варіант 4) інтенсивність росту рослин

зменшувалася. Спостерігалось уповільнення розвитку пагонів, зменшення площі листової поверхні та часткове пожовтіння листків. Зниження концентрації макро- і мікроелементів, ймовірно, обмежувало інтенсивність метаболічних процесів і синтез структурних компонентів клітин.

На середовищі МС зі зниженою концентрацією сахарози (20 г/л) та додаванням ІОК і БАП (варіант 5) рослини характеризувалися помірним ростом та меншою біомасою порівняно з варіантом 3. Зниження вмісту сахарози як основного джерела карбону обмежувало енергетичне забезпечення ростових процесів, що відображалось на загальному розвитку рослин.

Порівняння середовищ МС та В5 за однакового гормонального складу (варіанти 3 і 6) показало, що рослини на середовищі МС мали вищі показники росту, більшу кількість пагонів і листків. На середовищі В5 спостерігалось дещо повільніше пагоноутворення, проте рослини формували більш видовжені пагони та добре розвинену кореневу систему.

У варіанті 7 (В5, 20 г/л сахарози, ІОК + БАП) відзначалось пригнічення росту та зменшення інтенсивності морфогенезу. Комбінований вплив меншої концентрації сахарози та особливостей мінерального складу В5, ймовірно, створював умови помірного стресу для рослин.

Використання іншої комбінації фітогормонів - нафтилоцтової кислоти (НОК) та кінетину (варіант 8) - сприяло активному коренеутворенню та формуванню більшої кількості бічних коренів. Однак інтенсивність пагоноутворення була нижчою порівняно з варіантами, що містили БАП. Це може бути пов'язано з нижчою цитокініноювою активністю кінетину порівняно з БАП.

Найбільш пригнічений ріст спостерігався у варіанті 9, який поєднував середовище В5 зі зниженою концентрацією мінеральних солей і сахарози та додаванням НОК і кінетину. Рослини характеризувалися низькими темпами росту, дрібними листками та слабким розвитком

пагонів. Разом з тим, у частини експлантів спостерігалось потовщення тканин і накопичення пігментів, що може свідчити про активацію захисних метаболічних реакцій.

Отримані результати свідчать, що найбільш сприятливими для росту та розвитку *M. piperita in vitro* були середовища МС із повною концентрацією мінеральних солей та додаванням ІОК і БАП. Водночас зниження концентрації мінеральних компонентів або сахарози призводило до пригнічення ростових процесів, що може бути пов'язано зі зміною інтенсивності первинного та вторинного метаболізму рослин.

3.2. Аналіз біометричних показників рослин

Оцінка біометричних показників рослин *M. piperita in vitro* дозволила встановити суттєвий вплив складу живильного середовища на інтенсивність ростових процесів та морфогенез експлантів. Аналіз висоти пагонів, кількості пагонів, листків і довжини кореневої системи показав різну реакцію рослин на зміну мінерального складу середовища, концентрації сахарози та співвідношення регуляторів росту.

Найвищі показники росту надземної частини були зафіксовані у варіанті 3, де використовували середовище МС повної концентрації з додаванням ІОК (0,5 мг/л) та БАП (1,0 мг/л). Висота пагонів у цьому варіанті становила $6,7 \pm 0,30$ см, що перевищувало показники контрольного варіанта МС без регуляторів росту у 1,4 раза. Одночасно спостерігалось активне пагоноутворення - середня кількість пагонів становила $4,5 \pm 0,19$ шт., а кількість листків - $13,8 \pm 0,52$ шт. Це свідчить про стимулювальний вплив поєднання ауксину та цитокініну на процеси клітинного поділу та диференціації тканин.

На контрольному середовищі МС без додавання фітогормонів (варіант 1) рослини характеризувалися помірними темпами росту. Висота

пагонів становила $4,8 \pm 0,21$ см, кількість пагонів - $2,1 \pm 0,12$ шт., а кількість листків - $8,4 \pm 0,35$ шт. При цьому рослини мали добре сформовану кореневу систему та нормальне морфологічне забарвлення.

У варіанті 2 (B5 без регуляторів росту) всі досліджувані показники були нижчими порівняно з МС, що вказує на меншу ефективність середовища B5 для стимуляції росту *M. piperita in vitro*. Висота пагонів зменшувалася до $3,9 \pm 0,18$ см, а кількість листків - до $6,9 \pm 0,31$ шт.

Зниження концентрації мінеральних солей до 50% у середовищі МС (варіант 4) негативно впливало на розвиток рослин. У цьому варіанті відзначалося зменшення висоти пагонів до $4,2 \pm 0,20$ см та зниження кількості листків до $9,2 \pm 0,40$ шт. Ймовірно, дефіцит макро- та мікроелементів обмежував інтенсивність метаболічних процесів та синтез структурних компонентів клітини.

Зменшення концентрації сахарози до 20 г/л (варіант 5) також призводило до пригнічення росту. Порівняно з варіантом 3 спостерігалось зниження висоти пагонів до $5,1 \pm 0,24$ см та кількості пагонів до $3,6 \pm 0,17$ шт. Це свідчить про важливу роль сахарози як джерела енергії та вуглецю для рослин *in vitro*, які мають обмежені можливості автотрофного живлення.

Порівняння середовищ МС та B5 із однаковим гормональним складом (варіанти 3 та 6) показало, що рослини на МС характеризувалися інтенсивнішим ростом та активнішим пагоноутворенням. Водночас на середовищі B5 формувалася більш розвинена коренева система, де довжина коренів досягала $4,8 \pm 0,22$ см.

У варіанті 8, де використовували НОК (1,0 мг/л) та кінетин (0,5 мг/л), спостерігалось найбільш активне коренеутворення. Довжина кореневої системи становила $6,4 \pm 0,30$ см, що було найвищим показником серед усіх варіантів досліду. Однак кількість пагонів і листків залишалася нижчою порівняно з варіантом 3, що свідчить про переважний вплив даної комбінації фітогормонів на ризогенез.

Таблиця 3.2.1.

Вплив складу живильного середовища на біометричні показники

M. piperita in vitro

Варіант	Висота пагонів, см	Кількість пагонів, шт.	Кількість листків, шт.	Довжина коренів, см
1 (MS контроль)	4,8 ± 0,21	2,1 ± 0,12	8,4 ± 0,35	5,6 ± 0,28
2 (B5 контроль)	3,9 ± 0,18	1,8 ± 0,10	6,9 ± 0,31	5,1 ± 0,24
3 (MS + ІОК + БАП)	6,7 ± 0,30	4,5 ± 0,19	13,8 ± 0,52	3,7 ± 0,16
4 (½ MS + ІОК + БАП)	4,2 ± 0,20	3,1 ± 0,15	9,2 ± 0,40	3,5 ± 0,18
5 (MS + 20 г/л сахарози + ІОК + БАП)	5,1 ± 0,24	3,6 ± 0,17	10,6 ± 0,43	3,9 ± 0,20
6 (B5 + ІОК + БАП)	5,4 ± 0,26	3,8 ± 0,18	11,2 ± 0,48	4,8 ± 0,22
7 (B5 + 20 г/л сахарози + ІОК + БАП)	4,1 ± 0,19	2,9 ± 0,14	8,1 ± 0,37	4,2 ± 0,19
8 (MS + НОК + кінетин)	5,0 ± 0,23	2,7 ± 0,13	9,5 ± 0,41	6,4 ± 0,30
9 (½ B5 + 20 г/л сахарози + НОК + кінетин)	3,2 ± 0,16	1,9 ± 0,11	5,8 ± 0,29	3,1 ± 0,15

Найменші біометричні показники були отримані у варіанті 9, який поєднував середовище B5 зі зниженою концентрацією мінеральних солей та сахарози, а також додаванням НОК і кінетину. Висота пагонів становила лише $3,2 \pm 0,16$ см, а кількість листків - $5,8 \pm 0,29$ шт. Такі умови, ймовірно, створювали комплексний стресовий вплив на рослини, що призводило до пригнічення ростових процесів.

Отримані результати свідчать, що найбільш сприятливими умовами для росту та розвитку *M. piperita in vitro* є використання середовища MS повної концентрації з додаванням ІОК та БАП. Водночас зміна концентрації мінеральних солей, джерела карбону та типу регуляторів росту суттєво впливає на морфогенез рослин і може бути використана для регуляції ростових та метаболічних процесів у культурі *in vitro*.

3.3. Вміст загальних фенольних сполук у рослинах *Mentha piperita in vitro*

Важливим етапом дослідження було визначення загального вмісту фенольних сполук у рослинах *M. piperita*, культивованих на живильних середовищах різного складу. Відомо, що фенольні сполуки є одними з основних вторинних метаболітів рослин, синтез яких значною мірою залежить від умов культивування, забезпечення поживними речовинами та дії регуляторів росту. У культурі *in vitro* зміна складу живильного середовища може виступати як фактор метаболічного стресу, що впливає на інтенсивність накопичення поліфенолів.

Результати спектрофотометричного аналізу показали, що вміст загальних фенольних сполук суттєво варіював залежно від складу живильного середовища (табл. 3.3.1). Найнижчі показники були характерні для контрольних варіантів без додавання фітогормонів. У рослин, культивованих на середовищі МС без регуляторів росту (варіант 1), вміст фенольних сполук становив $18,4 \pm 0,72$ мг ЕГК/г сухої маси. На середовищі В5 без фітогормонів (варіант 2) цей показник був дещо вищим - $20,1 \pm 0,81$ мг ЕГК/г сухої маси, що може бути пов'язано з особливостями мінерального складу середовища В5 та менш інтенсивним ростом рослин.

Додавання до середовища МС ІОК (0,5 мг/л) та БАП (1,0 мг/л) (варіант 3) супроводжувалося підвищенням вмісту фенольних сполук до $24,7 \pm 0,95$ мг ЕГК/г сухої маси. Незважаючи на активний ріст та інтенсивне пагоноутворення, рівень накопичення фенолів залишався помірним, що, ймовірно, пов'язано з переважним спрямуванням метаболізму на ростові процеси.

Таблиця 3.3.1.

Вміст загальних фенольних сполук у рослинах *M. piperita in vitro*

Варіант	Склад середовища	Вміст фенольних сполук, мг ЕГК/г сухої маси
1	MS, контроль без фітогормонів	18,4 ± 0,72
2	B5, контроль без фітогормонів	20,1 ± 0,81
3	MS + ІОК 0,5 мг/л + БАП 1,0 мг/л	24,7 ± 0,95
4	½ MS + ІОК 0,5 мг/л + БАП 1,0 мг/л	31,8 ± 1,12
5	MS + 20 г/л сахарози + ІОК 0,5 мг/л + БАП 1,0 мг/л	29,6 ± 1,04
6	B5 + ІОК 0,5 мг/л + БАП 1,0 мг/л	27,9 ± 1,01
7	B5 + 20 г/л сахарози + ІОК 0,5 мг/л + БАП 1,0 мг/л	35,4 ± 1,26
8	MS + НОК 1,0 мг/л + кінетин 0,5 мг/л	28,3 ± 0,98
9	½ B5 + 20 г/л сахарози + НОК 1,0 мг/л + кінетин 0,5 мг/л	34,1 ± 1,20

У варіанті 4, де використовували середовище MS зі зниженою концентрацією мінеральних солей (50%), вміст фенольних сполук зростав до 31,8 ± 1,12 мг ЕГК/г сухої маси. Отримані результати свідчать про те, що дефіцит макро- та мікроелементів виступав стресовим фактором, який стимулював синтез вторинних метаболітів.

Подібна тенденція спостерігалася і у варіанті 5, де концентрацію сахарози було знижено до 20 г/л. У цьому випадку вміст фенольних сполук становив 29,6 ± 1,04 мг ЕГК/г сухої маси. Зменшення кількості доступного джерела карбону, ймовірно, активувало захисні механізми рослин та сприяло накопиченню поліфенольних речовин.

У рослин, культивованих на середовищі B5 з додаванням ІОК та БАП (варіант 6), вміст фенольних сполук становив 27,9±1,01 мг ЕГК/г сухої маси, що було вище порівняно з відповідним варіантом на

середовищі МС без модифікації компонентів. Це може свідчити про вплив особливостей мінерального складу В5 на інтенсивність вторинного метаболізму.

Найвищий вміст фенольних сполук було зафіксовано у варіанті 7 (В5, 20 г/л сахарози, ІОК + БАП), де цей показник досягав $35,4 \pm 1,26$ мг ЕГК /г сухої маси. Ймовірно, поєднання зниженої концентрації сахарози та особливостей середовища В5 створювало умови помірного стресу, що стимулювало активний синтез фенольних сполук.

У варіанті 8, де використовували НОК (1,0 мг/л) та кінетин (0,5 мг/л), вміст фенольних сполук становив $28,3 \pm 0,98$ мг ЕГК/г сухої маси. Інша комбінація регуляторів росту також сприяла активації вторинного метаболізму, хоча рівень накопичення фенолів був нижчим порівняно з варіантами 4, 7 та 9.

Високий вміст фенольних сполук також спостерігався у варіанті 9 - середовище В5 зі зниженою концентрацією мінеральних солей та сахарози, а також з додаванням НОК і кінетину. У цьому варіанті показник становив $34,1 \pm 1,20$ мг ЕГК/г сухої маси. Комплексний вплив дефіциту поживних речовин та зміненого гормонального балансу, імовірно, стимулював активацію захисних метаболічних реакцій.

Таким чином, результати дослідження показали, що склад живильного середовища суттєво впливає на накопичення фенольних сполук у рослинах *M. piperita in vitro*. Найвищі показники були отримані у варіантах зі зниженим вмістом сахарози та модифікованим мінеральним складом середовища, що підтверджує роль помірного стресу як фактора стимуляції синтезу вторинних метаболітів.

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволяють зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що склад живильного середовища суттєво впливає на інтенсивність ростових процесів, морфогенез та метаболічну активність рослин *Mentha piperita* L. *in vitro*. Найбільш ефективним для стимуляції росту та пагоноутворення виявилося середовище МС повної концентрації з додаванням ІОК (0,5 мг/л) та БАП (1,0 мг/л).

2. Визначено основні біометричні показники рослин м'яти перцевої *in vitro*. Максимальні показники висоти пагонів ($6,7 \pm 0,30$ см), кількості пагонів ($4,5 \pm 0,19$ шт.) та листків ($13,8 \pm 0,52$ шт.) були отримані у варіанті МС + ІОК + БАП. Найбільш інтенсивне коренеутворення спостерігалось на середовищі МС з додаванням НОК (1,0 мг/л) та кінетину (0,5 мг/л), де довжина кореневої системи досягала $6,4 \pm 0,30$ см.

3. Встановлено, що зміна концентрації мінеральних солей та сахарози впливає на накопичення загальних фенольних сполук у рослинах *Mentha piperita* L. Спектрофотометричний аналіз показав, що вміст фенольних сполук варіював у межах від $18,4 \pm 0,72$ до $35,4 \pm 1,26$ мг ЕГК/г сухої маси залежно від складу живильного середовища.

4. Найвищий вміст фенольних сполук було зафіксовано у рослин, культивованих на середовищі В5 зі зниженою концентрацією сахарози (20 г/л) та додаванням ІОК і БАП, де показник становив $35,4 \pm 1,26$ мг ЕКГ/г сухої маси. Високі показники також отримано у варіанті $\frac{1}{2}$ В5 + 20 г/л сахарози + НОК + кінетин ($34,1 \pm 1,20$ мг ЕГК/г сухої маси).

5. Проведений порівняльний аналіз показав, що оптимальні умови для інтенсивного росту рослин *Mentha piperita* L. *in vitro* та для накопичення фенольних сполук відрізняються. Для стимуляції росту найбільш придатним є середовище МС з ІОК та БАП, тоді як для активації синтезу фенольних сполук ефективнішими є модифіковані середовища В5

зі зниженою концентрацією сахарози та мінеральних солей, які створюють умови помірного стресу.

6. Отримані результати підтверджують перспективність використання культури *in vitro* як ефективного підходу для регуляції ростових процесів і спрямованого накопичення біологічно активних речовин у рослинах *Mentha piperita* L. та можуть бути використані для подальших біотехнологічних досліджень і розробки технологій одержання рослинної сировини з підвищеним вмістом фенольних сполук.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Wu Z., et al. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – Article 2825.
2. Ashrafi B., et al. *Mentha piperita* essential oils loaded in a chitosan nanogel with inhibitory effect on biofilm formation against *S. mutans* on the dental surface // *Carbohydrate Polymers*. – 2019. – Vol. 212. – P. 142–149.
3. Kiełtyka-Dadasiewicz A. Morphological and genetic diversity among peppermint (*Mentha × piperita* L.) cultivars // *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. – 2017. – Vol. 16. – P. 151–161.
4. Shahidi F., Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects // *Journal of Functional Foods*. – 2015. – Vol. 18. – P. 820–897.
5. McKay D. L., Blumberg J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.) // *Phytotherapy Research*. – 2006. – Vol. 20. – P. 619–633.
6. Singletary K. Peppermint: Overview of potential health benefits // *Nutrition Today*. – 2018. – Vol. 53, № 6. – P. 281–287.
7. Hudz N., Kobylinska L., Pokajewicz K., Horčinová Sedláčková V., Fedin R., Voloshyn M., Myskiv I., Brindza J., Wieczorek P. P., Lipok J. *Mentha piperita*: Essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28, № 21. – Article 7444. DOI: 10.3390/molecules28217444.
8. Xu L., Wang X. A comprehensive review of phenolic compounds in horticultural plants // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – Vol. 26, № 12. – Article 5767. DOI: 10.3390/ijms26125767.

9. Rana A., Samtiya M., Dhewa T., Mishra V., Aluko R. E. Health benefits of polyphenols: A concise review // *Journal of Food Biochemistry*. – 2022. – Vol. 46. – Article e14264.
10. Domínguez-Avila J. A., Villa-Rodriguez J. A., Montiel-Herrera M., Pacheco-Ordaz R., Roopchand D. E., Venema K., González-Aguilar G. A. Phenolic compounds promote diversity of gut microbiota and maintain colonic health // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2021. – Vol. 66. – P. 3270–3289.
11. Marchiosi R., dos Santos W. D., Constantin R. P., Barbosa R. Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants // *Phytochemistry Reviews*. – 2020. – Vol. 19. – P. 865–906.
12. Li Q., et al. Linking short-chain N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing and replant disease: A case study of *Rehmannia glutinosa* // *Frontiers in Plant Science*. – 2020. – Vol. 11. – P. 787–799.
13. Catalgol B., Batirel S., Taga Y., Ozer N. K. Resveratrol: French paradox revisited // *Frontiers in Pharmacology*. – 2012. – Vol. 3. – Article 141.
14. Yang W., Ding H., Puglia D., Kenny J. M., Liu T., Guo J., Wang Q., Qu R., Xu P., Ma P. et al. Bio-renewable polymers based on lignin-derived phenol monomers: Synthesis, applications, and perspectives // *SusMat*. – 2022. – Vol. 2. – Article 34.
15. Seo D. H., Jeong H., Choi Y. D., Jang G. Auxin controls the division of root endodermal cells // *Plant Physiology*. – 2021. – Vol. 187. – P. 1577–1586.
16. Balarynová J., et al. The loss of polyphenol oxidase function is associated with hilum pigmentation and has been selected during pea domestication // *New Phytologist*. – 2022. – Vol. 235. – P. 1807–1821.
17. Teale W. D., et al. Flavonol-mediated stabilization of PIN efflux complexes regulates polar auxin transport // *The EMBO Journal*. – 2021. – Vol. 40. – Article e104416.

18. Huang G., et al. AUXIN RESPONSE FACTORS 6 and 17 control the flag leaf angle in rice by regulating secondary cell wall biosynthesis of lamina joints // *The Plant Cell*. – 2021. – Vol. 33. – P. 3120–3133.
19. Zhou Y., et al. NPR1 promotes blue light-induced plant photomorphogenesis by ubiquitinating and degrading PIF4 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2024. – Vol. 121. – Article e2412755121.
20. Li H., et al. Regulation of lignin biosynthesis by GhCAD37 affects fiber quality and anther vitality in upland cotton // *The Plant Journal*. – 2024. – Vol. 120. – P. 2846–2860.
21. Pei L., et al. Phenolic acids and flavonoids play important roles in flower bud differentiation in *Mikania micrantha*: Transcriptomics and metabolomics // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – Article 16550.
22. Lu P., et al. A novel G-protein-coupled receptors gene from upland cotton enhances salt stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* // *Genes*. – 2018. – Vol. 9. – Article 209.
23. Cozzolino R., et al. Profiles of volatile and phenolic compounds as markers of ripening stage in Candonga strawberries // *Foods*. – 2021. – Vol. 10. – Article 3102.
24. Liu M., Zhu Q., Yang Y., Jiang Q., Cao H., Zhang Z. Light influences the effect of exogenous ethylene on the phenolic composition of Cabernet Sauvignon grapes // *Frontiers in Plant Science*. – 2024. – Vol. 15. – Article 1356257.
25. Changwal C. et al. Regulation of postharvest tomato fruit ripening by endogenous salicylic acid // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – Article 663943.

26. Zhang X., et al. MdWER interacts with MdERF109 and MdJAZ2 to mediate methyl jasmonate- and light-induced anthocyanin biosynthesis in apple fruit // *The Plant Journal*. – 2024. – Vol. 118. – P. 1327–1342.
27. Xu Q., Zheng B., Li T., Liu R. H. Black goji berry anthocyanins extend lifespan and enhance the antioxidant defenses in *Caenorhabditis elegans* via the JNK-1 and DAF-16/FOXO pathways // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2025. – Vol. 105. – P. 2282–2293.
28. Hasanuzzaman M., et al. Regulation of ascorbate–glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress // *Antioxidants*. – 2019. – Vol. 8. – Article 384.
29. Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L., Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity // *Food Chemistry*. – 2022. – Vol. 383. – Article 132531.
30. Ray A., Kundu S., Mohapatra S. S., Sinha S., Khoshru B., Keswani C., Mitra D. An insight into the role of phenolics in abiotic stress tolerance in plants: Current perspective for sustainable environment // *Journal of Pure and Applied Microbiology*. – 2024. – Vol. 18. – Article 8964.
31. Cosgrove D. J. Nanoscale structure, mechanics and growth of epidermal cell walls // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2018. – Vol. 46. – P. 77–86.
32. Zhou Z., Li J., Zhu C., Jing B., Shi K., Yu J., Hu Z. Exogenous rosmarinic acid application enhances thermotolerance in tomatoes // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – Article 1172.
33. Li S., He L., Yang Y., Zhang Y., Han X., Hu Y., Jiang Y. Inducer of CBF expression 1 promotes cold-enhanced immunity by directly activating salicylic acid signaling // *The Plant Cell*. – 2024. – Vol. 36. – P. 2587–2606.
34. Bali S., et al. Jasmonic acid application triggers detoxification of lead (Pb) toxicity in tomato through the modifications of secondary metabolites and gene expression // *Chemosphere*. – 2019. – Vol. 235. – P. 734–748.

35. Nascimento L. B. D. S., et al. Ultraviolet-B radiation effects on phenolic profile and flavonoid content of *Kalanchoe pinnata* // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2015. – Vol. 148. – P. 73–81.
36. Wang Q., et al. Saline-alkali stress affects the accumulation of proanthocyanidins and sesquiterpenoids via the MYB5-ANR/TPS31 cascades in the rose petals // *Horticulture Research*. – 2024. – Vol. 11. – Article 11.
37. Shimamura M., et al. Phenolic acids induce Nod factor production in *Lotus japonicus*–*Mesorhizobium* symbiosis // *Microbes and Environments*. – 2022. – Vol. 37. – Article ME21094.
38. Gong Q., et al. Molecular basis of methyl-salicylate-mediated plant airborne defence // *Nature*. – 2023. – Vol. 622. – P. 139–148.
39. Zhang X., Su M., Du J., Zhou H., Li X., Zhang M., Hu Y., Ye Z. Profiling of naturally occurring proanthocyanidins and other phenolic compounds in a diverse peach germplasm by LC-MS/MS // *Food Chemistry*. – 2023. – Vol. 403. – Article 134471.
40. Cheynier V., Comte G., Davies K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 72. – P. 1–20.
41. Salehi B., et al. Plants of genus *Mentha*: From farm to food factory // *Plants*. – 2018. – Vol. 7. – Article 70.
42. Pluháčková H., et al. Phytochemical variability of *Mentha* L. species over three growing seasons // *Chemistry & Biodiversity*. – 2026. – Vol. 23, № 3. – Article e03674. DOI: 10.1002/cbdv.202503674.
43. Pferschy-Wenzig E. M., Bauer R. The relevance of pharmacognosy in pharmacological research on herbal medicinal products // *Epilepsy & Behavior*. – 2015. – Vol. 52. – P. 344–362. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.05.037.
44. Chen J., Li W., Yao H., Xu J. Insights into drug discovery from natural products through structural modification // *Fitoterapia*. – 2015. – Vol. 103. – P. 231–241. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.04.012.

45. Chandran H., Meena M., Barupal T., Sharma K. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds // *Biotechnology Reports*. – 2020. – Vol. 26. – Article e00450. DOI: 10.1016/j.btre.2020.e00450.
46. Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. Flavonoids: An overview // *Journal of Nutritional Science*. – 2016. – Vol. 5. – Article e47. DOI: 10.1017/jns.2016.41.
47. Haida Z., Syahida A., Ariff S. M., Maziah M., Hakiman M. Factors affecting cell biomass and flavonoid production of *Ficus deltoidea* var. *kunstleri* in cell suspension culture system // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – Article 9533. DOI: 10.1038/s41598-019-46042-w.
48. Liu Z. B., et al. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation increase content and yield of chlorogenic acid and its derivatives in *Gardenia jasminoides* cell suspension cultures // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2018. – Vol. 134. – P. 79–93. DOI: 10.1007/s11240-018-1401-1.
49. Açıkgoz M. A. Establishment of cell suspension cultures of *Ocimum basilicum* L. and enhanced production of pharmaceutical active ingredients // *Industrial Crops and Products*. – 2020. – Vol. 148. – Article 112278. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112278.
50. Jiang X. L., et al. Improvement of bioactive compound accumulation in adventitious root cultures of an endangered plant species, *Oplopanax elatus* // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2017. – Vol. 39. – Article 226. DOI: 10.1007/s11738-017-2525-3.
51. Wawrosch C., Zotchev S. B. Production of bioactive plant secondary metabolites through in vitro technologies – status and outlook // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 105. – P. 6649–6668. DOI: 10.1007/s00253-021-11539-w.

52. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

53. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // *Experimental Cell Research*. – 1968. – Vol. 50. – P. 151–158.

54. Ainsworth E. A., Gillespie K. M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent // *Nature Protocols*. – 2007. – Vol. 2. – P. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.